取扱説明書

ver. 1.1　　2013 年 6 月 3 日作成

【測定原理】

本法は Nitroso-PSAP と Fe^{2+}とのキレート錯体形成による可視部の発色を観測し鉄濃度を求めます。
Fe^{3+}はキット中の還元剤により Fe^{2+}に還元し、Nitroso-PSAP-Fe^{2+}錯体を形成させます。
この錯体を波長 750nm で測定することにより鉄（Fe^{2+}＋Fe^{3+}）濃度を求めることができます。

【キットの内容】（合計 200 検体測定分）

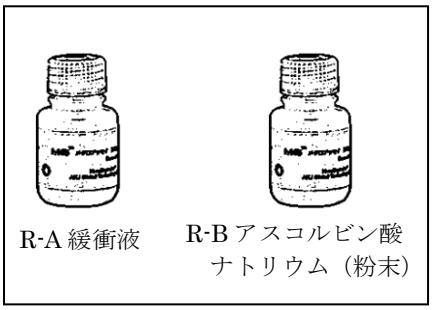
R-A 緩衝液（Buffer）	32 mL
R-B アスコルビン酸ナトリウム（粉末）（Sodium ascorbate）	30 mL ボトル×1
R-C 発色液（Chelate color）	15 mL
鉄標準液 2 mg/L（Iron primary standard solution　2 mg/L）	2.0 mL

※　キットにキュベット・セル、96 穴ウエルは含まれておりません。ユーザー様で別途御用意下さい。

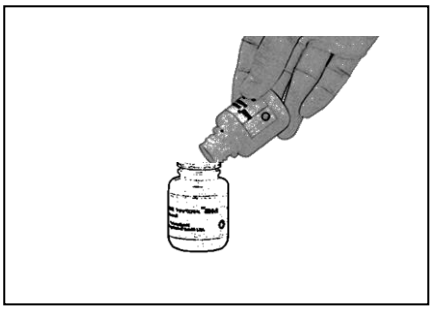
【試薬の準備】

緩衝液 R-AB の調製：　R-A 緩衝液を R-B アスコルビン酸ナトリウム（粉末）容器へ、瓶 1 本全量を添加し、容器中の粉末を十分に溶解させて下さい。これを緩衝液 R-AB とします。

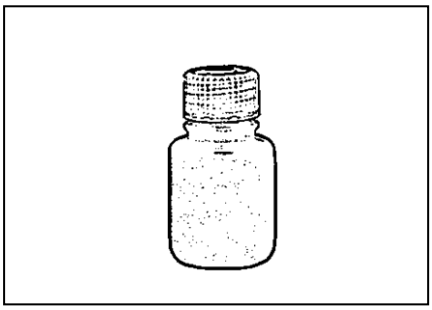
※　緩衝液 R-AB の調製後は、冷暗所（2-8℃）に保存し、6 ヶ月以内に使用して下さい。



① R-A 緩衝液、
R-B アスコルビン酸
ナトリウム（粉末）



② R-A 緩衝液を R-B アスコルビン酸ナトリウム（粉末）容器へ、瓶 1 本全量を添加し、容器中の粉末を十分に溶解させて下さい



③ ②で混合溶解させたものを「緩衝液 R-AB」とします。

発色液：　そのまま使用して下さい。

鉄標準液（2 mg/L）：　そのまま使用して下さい。

【測定試料の注意点】

1） 測定試料が強酸の場合は、pH=2 以上にしてからアッセイ検体としてください。

2） 懸濁や着色している試料はあらかじめ EDTA により測定元素をマスキングさせた試料ブランク検体をたて、試料の吸収から妨害吸収を差分して濃度を算出してください。詳しくは弊社 website の 試料ブランク法を御参照ください。

3） 著しく懸濁している場合は遠心分離等で懸濁物を除去したものをアッセイ検体としてください。

4） 測定レンジ以上の検体は適当に希釈したものをアッセイ検体としてください。または多点検量線を作成し、濃度を求めて下さい。

5） 本法は公定法ではありません、計量証明目的には使用できません。

6） 本法は生物試料には適用できません。生物試料を定量する場合は、弊社姉妹品のメタロアッセイ LS シリーズをご使用ください。詳細については、弊社 website を御参照下さい。

7） 本法はその得られた数値を保証するものではありません。予め対象試料の測定値、誤差、特性を確認した後、応用される際は最適パラメータを試料種ごとに検討の上、ご使用されることをお奨め致します。

【操 作】

1. 測定条件（マイクロプレートリーダーの場合）

測光波長： 750 nm （720-780nm）
温度 ： 25/30/37 ℃
ウエル ： 96 穴ウエル （タンパク低吸着タイプが望ましい）

※ 注意
紫外可視分光光度計を使用してキュベットで測定する場合、**測定可能な検体数はマイクロプレートリーダー使用時と比較して少なくなります**。ダウンサイズされた微量セルを使用することで 96 穴ウエルと同等の測定数を得ることも可能です。
詳細については、弊社 website のサポート情報「紫外可視分光計 微量セル推奨品」を御参照下さい。

2. アッセイ

以下の用量で発色液、標準液、試料を分注し、よく混合して下さい。
混合後 5-10 分間静置し、上記の測定条件でマイクロプレートリーダー（紫外可視分光光度計）により測定してください。

添加順		測定検体		
		試薬ブランク	鉄標準試料	試料
1	蒸留水（μL）	15	-	-
	鉄標準液 （μL）	-	15	-
	試料 （μL）	-	-	15
2	緩衝液R-AB （μL）	160	160	160
↓	よく混合して下さい			
3	発色液 （μL）	75	75	75
5−10分間反応後、750nmの吸光度を測定して下さい				

【濃度の計算】

$$\text{Fe濃度（mg/L）} = \frac{A_{Sample} - A_{Blank}}{A_{Std} - A_{Blank}} \times 2 \times \text{標準液濃度 mg/L}$$

A_{Sample}： 試料の吸光度
A_{Std}： 鉄標準試料の吸光度
A_{Blank}： 試薬ブランクの吸光度

【性　能】

・感　度　精製水をブランクとして測定した時の吸光度は 0.08　以下です。
試薬をブランクとして鉄標準液（2 mg/L）を測定した時の吸光度は 0.08～0.15 の範囲内です。

・同時再現性　同一検体を 5 回測定した時の C.V は 5%以内です。
（鉄濃度が 0.04-2 mg/L の既知濃度環境試料測定時）

・正確性　バソフェナントロリン比色法、TPTZ 比色法、原子吸光光度法と良好な相関があります。

・測定範囲　0.04～10 mg/L

・共存物質の許容範囲　Ni(II)、Cu(II)は 10 倍量（モル濃度）でデータへの影響は 10%以内です。
Ca(II)は 10 倍量（モル濃度）でデータへの影響は 5 %以内です。

【品質保持期限と保存方法】

品質保持期限：商品包装袋及び商品外箱に表示。（製造日から 12 ヶ月間）

御購入後、冷暗所（2-8℃）で保存して下さい。

【参考文献】

斎藤幹彦, 堀口大吉, 喜納兼勇, *分析化学*, 30, 635－639（1981）

※ 表記性能は汎用されているマイクロプレートリーダー、紫外可視分光光度計を用いた場合の目安です。使用機器の型式によっては完全に一致しない場合があります。予め御了承下さい。

※ 品質に関してのお問い合わせの際は、試薬キット包装袋に貼付の Lot No.を御確認の上、お問い合わせ下さい。

※ 製品の仕様・サービス・包装形態・梱包形態は、予告なく変更する場合があります。本マニュアルに従い、適切に御使用下さい。

※ 製品の輸送・取扱い・処理・廃棄については、付属の製品安全データシート（MSDS）に従って下さい。

【製造販売業者】

メタロジェニクス株式会社　営業部
〒260-0856　千葉市中央区亥鼻 1-8-15　千葉大亥鼻イノベーションプラザ
TEL :　043-227-6767
FAX :　043-227-6768
e-mail :　sales@metallogenics.com
URL:　http://metallogenics.com/

※メタロアッセイ ™は、メタロジェニクス（株）の試薬キットの名称です。